

BIOLABO
www.biolabo.fr
FABRICANTE:
BIOLABO SAS,
Les Hautes Rives
02160, Maizy, France

PROTEINAS TOTALES Método Biuret

Reactivo para la determinación cuantitativa de las proteínas totales en plasma o suero humano

REF 80016 : R1 1 x 500 mL R2 1 x 500 mL R3 1 x 5 mL

CODIGO CNQ: WT

SOPORTE TECNICO Y PEDIDOS
Tel: (33) 03 23 25 15 50
Fax: (33) 03 23 256 256

CE

IVD **USO IN VITRO**

SIGNIFICACION CLINICA (1)

La composición global en proteínas de un suero o de un plasma de paciente debe ser estudiada por determinación del contenido en proteínas totales y a continuación examinar su composición por electroforesis.
La disminución del volumen de agua plasmática (hemoconcentración), frecuente en caso de deshidratación (vómitos agudos, diarreas, enfermedad de Addison, o acidosis diabética), se traduce en una hiperproteinemia relativa. La hemodilución (aumento del volumen de agua plasmática) va a producir una hipoproteinemia relativa, como la que ocurre en casos de intoxicación por agua, síndromes de retención de sal, durante una transfusión intravenosa, y fisiológicamente en caso de encamamiento prolongado. A menudo y por diferentes razones, la hipoproteinemia también puede ser debida a una disminución de la concentración en albúmina.
El aumento de proteínas específicas puede igualmente conducir a una hiperproteinemia media (infección). Una hiperproteinemia marcada puede ser debida a un aumento importante de las inmunoglobulinas monoclonales producidas en el mieloma múltiple u otras hiperparaproteinemias malignas.

PRINCIPIO (4) (5)

Método colorimétrico descrito por Gornall y al. Las relaciones peptídicas de las proteínas reaccionan con Cu^{2+} en solución alcalina para formar un complejo coloreado del cual la absorbencia, proporcional a la concentración en proteínas en la muestra, es medida a 550 nm. El reactivo Biuret contiene sodio-potasio-tartrato que compleja los iones cúpricos y mantiene su solubilidad en solución alcalina.

REACTIVOS

Vial R1 **CLORURO DE SODIO**

Cloruro de sodio	75	mmol/L

Vial R2 **REACTIVO BIURET**

Antes de la dilución: Corrosivo, R35: Provoca quemaduras graves
Después de la dilución: Xi, R36/37/38: Irrita los ojos, la piel y las vías respiratorias
S36/37/39: Usar indumentaria y guantes adecuados y protección para los ojos/la cara

Hidróxido de sodio	370	mmol/L
Tartrato-Na-K	10	mmo/L
Ioduro de potasio	3	mmol/L
Sulfato de cobre	3	mmol/L

Vial R3 **STANDARD** Albumina bovina 6 g/dL

PRECAUCIONES

Los reactivos BIOLABO están destinados únicamente a profesionales, para uso in vitro.

- Verificar la integridad de los reactivos antes de su utilización.
- Utilizar equipamientos de protección (bata, guantes, gafas).
- No pipetear con la boca.
- El contenido del vial R2 sigue siendo corrosivo después de su dilución (R34: provoca quemaduras).
- En caso de contacto con la piel o los ojos, enjuagar abundantemente y consultar al médico.
- Los reactivos contienen azida de sodio (concentración < 0,1%) que puede reaccionar con metales como el cobre o el plomo de las tuberias. Enjuagar con abundancia.
- La ficha de datos de seguridad puede obtenerse por petición.
- Eliminación de los deshechos: respetar la legislación en vigor.

Por medida de seguridad, tratar toda muestra como potencialmente infecciosa. Respetar la legislación en vigor.

PREPARACION DE LOS REACTIVOS

Colmar hasta el cuello con agua desmineralizada el contenido del vial R1 (NaCl) y del vial R2 (Biuret). Mezclar por inversión. Los reactivos así diluidos están listos para el uso

ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

A la recepción, almacenar el Standard (vial R3) a 2-8°C.

- Standard (vial R3): transvasar la cantidad necesaria, tapar de nuevo el vial y almacenar a 2-8°C
- Utilizados y almacenados en las condiciones adecuadas, los reactivos (viales R1, R2, R3) son estables en el vial de origen bien tapado y en ausencia de contaminación, hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la caja.
- Después de abrir:
  Los reactivos de trabajo (listos para el uso) son estables por lo menos 3 meses, almacenados a 18-25 ºC y protegidos de la luz.

No utilizar los reactivos de trabajo si están turbios o si la absorbencia de la mezcla volumen a volumen del contenido del vial R1 y R2 es > 0.050 a 550 nm.
No utilizar los reactivos de trabajo después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de la caja.

TOMA Y PREPARACION DE LA MUESTRA (2)

Suero o plasma.
El análisis debe ser realizado sobre una muestra reciente o almacenada a 2-8°C menos de 72 h.
Las proteínas son estables en el suero:
✓6 meses a –20°C.
✓Indefinidamente a –70°C.

INTERFERENCIAS (3)

Resultados de los tests réalizados según Procedimiento n°1:

Glucosa:	No hay interferencia hasta 11 g/L
Acido ascórbico:	No hay interferencia hasta 250 mg/L
Bilirrubina:	No hay interferencia de la bilirrubina total hasta 550 µmol/L
Hemoglobina:	Interferencia positiva a partir de 150 µmol/L
Lipemia:	Interferencia positiva de la turbidez a partir de 0.150 abs (medidas a 600nm)

Las muestras lipémicas o hemolizadas pueden conducir a resultados sobre evaluados. Para evitar estas interferencias, conviene realizar un blanco muestra (ver § **MODO DE EMPLEO**: procedimiento n°2).
Young D.S. a publicado une lista de las sustancias que interfieren con la determinación.

REACTIVOS Y MATERIAL COMPLEMENTARIOS

1. Equipamiento de base del laboratorio de análisis médico.
2. Sueros de controles normales y patológicos.

CALIBRACION (6)

- Standard de la caja (vial R3) o BIOLABO Multicalibrator REF 95015 trazables sobre SRM927d.
- O cualquier otro calibrador trazable sobre un método o un material de referencia.

La frecuencia de calibración depende de las prestaciones del analizador y de las condiciones de conservación del reactivo.
Se recomienda calibrar de nuevo en los siguientes casos:
1. Cambio de lote del reactivo.
2. Después de operación de mantenimiento sobre el analizador.
3. Los valores de control obtenidos salen de los límites de confianza, incluso después de la utilización de un segundo vial de suero de control recién reconstituido.

CONTROL DE CALIDAD CODIGO CNQ: WT

- BIOLABO EXATROL-N Tasa I REF 95010.
- BIOLABO EXATROL-P Tasa II REF 95011.
- Cualquier otro suero de control titulado para este método.
- Programa externo de control de calidad.

Es recomendado controlar en los siguientes casos:
- Al menos un control por rutina.
- Al menos un control cada 24 horas.
- Cambio de vial del reactivo.
- Después de operación de mantenimiento sobre el analizador.

Cuando un valor de control se encuentra fuera de los límites de confianza recomendados, aplicar las siguientes acciones correctivas:
1. Repetir el test utilizando el mismo control.
2. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, preparar un suero de control recién reconstituido y repetir el test.
3. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, utilizar otro calibrador o un calibrador recién reconstituido y repetir el test.
4. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, calibrar nuevamente utilizando otro vial de reactivo y repetir el test.
5. Si el valor obtenido queda fuera de los límites, contactar el servicio técnico BIOLABO o el distribuidor local.

INTERVALOS DE REFERENCIA (2)

En suero o plasma

Proteínas totales	(g/dL)
En el cordón	4.8-8.0
Prematuro	3.6-6.0
Recién nacido	4.6-7.0
1 semana	4.4-7.6
7 meses-1 año	5.1-7.3
1 año -2 años	5.6-7.5
≥ 3 años	6.0-8.0
Adulto, ambulatorio	6.4-8.3
Adulto, encamado	6.0-7.8
≥ 60 años	Valores del adulto menores de 0.2

Se recomienda a cada laboratorio definir sus propios intervalos de referencias para la población estimada.

PRESTACIONES

Intra-serie N = 20	*Tasa débil*	*Tasa media*
Media g/dL	4.88	5.45
S.D. g/dL	0,06	0,06
C.V. %	1,2	1,2

Inter-serie N = 20	*Tasa débil*	*Tasa media*
Media g/dL	6.92	7.45
S.D. g/dL	0.11	0.13
C.V. %	1,6	1,7

Límite de detección: aproximadamente 0.21 g/dL

Sensibilidad para 1 g/dL: aproximadamente 0.028 Abs. a 550 nm.

Comparación con reactivo comercial (método Biuret):

93 muestras (sueros) situadas entre 30 y 110 g/L de dosifican con los 2 métodos

y = 0.9758 x + 0.14819 r = 0,9879

LIMITE DE LINEALIDAD

La reacción es lineal hasta 10 g/dL. Más allá, diluir la muestra con una solución NaCl a 0.9 g/dL y hacer de nuevo la determinación teniendo en cuenta la dilución en el cálculo del resultado. El límite de linealidad depende de la relación de dilución muestra/reactivo.

MODO DE EMPLEO (TECNICA MANUAL)

Procedimiento n°1 (sin muestra blanca)

Poner los reactivos y muestras a temperatura ambiente.

Medir en tubos de ensayo bien identificados:	Blanco	Standard	Prueba
Reactivo R1	1,02 mL	1 mL	1 mL
Reactivo R2	1 mL	1 mL	1 mL
Standard		20 µL	
Muestra			20 µL
Mezclar bien. Dejar reposar 10 minutos a temperatura ambiente. Leer las absorbencias a 550 nm (530-570) contra el blanco reactivo.			

Procedimiento n°2 (con muestra blanca)

Poner los reactivos y muestras a temperatura ambiente.

Medir en tubos de ensayo bien identificados:	Blanco	Muestra Blanca	Standard	Prueba
Reactivo R1	1,02 mL	2 mL	1 mL	1 mL
Reactivo R2	1 mL		1 mL	1 mL
Standard			20 µL	
Muestra		20 µL		20 µL
Mezclar bien. Dejar reposar 10 minutos a temperatura ambiente. Leer las absorbencias a 550 nm (530-570) contra el blanco reactivo. Leer los blancos de muestra contra el reactivo R1.				

Notas:
- ✓ Procedimientos específicos están disponibles para los analizadores automáticos. Contactar el servicio técnico BIOLABO.
- ✓ Realizar una blanco muestra para los sueros turbios, lipémicos o hemolizados.
- ✓ Se debe tener en cuenta el hecho que los valores al blanco dados para ciertos sueros de control son obtenidos con o sin blanco muestra.
- ✓ En análisis dicromático, la 2ª longitud de onda es 600 ó 700 nm.

CALCULO

El resultado está determinado según la siguiente fórmula:

Sin blanco muestra:

$$\text{Resultado} = \frac{\text{Abs (Prueba)}}{\text{Abs (Standard)}} \times \text{concentración del Standard}$$

Con blanco muestra:

$$\text{Resultado} = \frac{\text{Abs (Prueba)- Abs (Blanco Muestra)}}{\text{Abs (Standard)}} \times \text{concentración del Standard}$$

BIBLIOGRAFIA

(1) *TIETZ N.W. Text book of clinical chemistry, 3rd Ed. C.A. Burtis, E.R. Ashwood, W.B. Saunders (1999) p. 477-530.*
(2) *Clinical Guide to Laboratory Test, 4th Ed., N.W. TIETZ (2000) p. 916-917.*
(3) *YOUNG D.S., Effect of Drugs on Clinical laboratory Tests, 4th Ed. (1995) p. 3-498 à 3-511*
(4) *GORNALL A. C., BARDAWILL C. J., DAVID M. M., J. Biol. Chem. 1949, 177, 751*
(5) *TIETZ N.W. Text book of clinical chemistry, 3d Ed. C.A. Curtis, E.R. Silverman L . M., Christensen R. H. (1995) p. 523-524.*
(6) *SRM: Standard reference Material ®*

